

REF 7900005 (100 tubes)
IVD 9528-20 (20 tubes)

SYMBOLE

IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*	REF	Numéro de catalogue
LOT	Code/Numéro de lot		A utiliser avant le AAAA-MM-JJ
	Limite de température		Fabricant
	Attention, prière de consulter les documents annexes		Voir le mode d'emploi
EC REP	Représentant agréé de l'Union Européenne	STERILE R	Stérile, rayonnement
	Ne pas réutiliser		

DOMAINE D'UTILISATION
Le tube de conservation CellSave est destiné au prélèvement et à la conservation des cellules épithéliales circulant (cellules tumorales) dans le sang entier (sang non coagulé). Ces cellules seront utilisées pour la numération et le phénotypage.

INDICATIONS
Les tubes de conservation CellSave permettent notamment de surveiller les cellules épithéliales circulantes (cellules tumorales), ce qui peut aider à la prise en charge des patients atteints de cancer.

DESCRIPTION DU PRODUIT
Les tubes CellSave sont des tubes de prélèvement de sang à vide qui contiennent l'anticoagulant EDTA et un préservatif cellulaire. Le vide permet de prélever environ 10 ml de sang. L'intérieur du tube est stérile. Les tubes CellSave doivent être utilisés avec les instruments Veridex.

PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT
Les tubes CellSave sont des tubes de prélèvement de sang à vide prévus pour être utilisés avec les instruments standard de phlébotomie pour le prélèvement de sang veineux. Le tube contient 300 µl d'une solution composée de Na_2EDTA et de préservatif cellulaire. L'EDTA absorbe les ions calcium, ce qui empêche la coagulation du sang. Le préservatif préserve la morphologie des cellules épithéliales et l'expression des antigènes à leur surface. Chaque tube est mis sous vide afin de prélever 10,0 ml de sang veineux entier lors des procédures de phlébotomie standard.

RESTRICTIONS
- Le volume de sang prélevé varie en fonction de l'altitude, de la température ambiante, de la pression atmosphérique, de l'âge du tube, de la pression veineuse et de la technique de remplissage.
- Les échantillons doivent être traités dans les 96 heures qui suivent le prélèvement.
- Pour l'analyse des cellules rares avec le CELLTRACKS ANALYZER II™, vérifiez l'intégrité des échantillons en suivant les instructions du manuel d'utilisation du CELLTRACKS ANALYZER II™.

PRÉCAUTIONS
1. Le stockage des tubes à une température inférieure ou égale à 0 °C peut entraîner le bris du tube.
2. Ne pas retirer le bouchon de caoutchouc avec le pouce. Retirer les bouchons en appliquant un mouvement de torsion et de traction.
3. Ne pas utiliser les tubes contenant des corps étrangers.
4. Respecter les précautions universelles. Utiliser des gants, une blouse, des lunettes de protection et tout autre équipement de protection individuel, ainsi que les fonctions de sécurité intégrée, pour se protéger de toute éclaboussure ou fuite de sang et de l'exposition éventuelle aux pathogènes transmissibles par le sang.
5. Tout objet en verre est susceptible de se briser. Rechercher toute avarie éventuelle sur les objets en verre et respecter les mesures de sécurité lors de la manipulation.
6. Manipuler tous les échantillons biologiques et les objets pointus servant au prélèvement de sang (lancettes, aiguilles, raccords Luer et ensembles pour prélèvement sanguin) en respectant les directives et procédures en vigueur dans votre établissement. En cas d'exposition à des échantillons biologiques (par exemple, en cas de lésion par ponction), demander un avis médical en raison du risque de transmission de l'hépatite virale, du VIH (SIDA) ou d'autres maladies infectieuses. Utiliser la gaine intégrée pour aiguille usagée si le dispositif de prélèvement sanguin en fournit une. Veridex déconseille de remettre la protection sur les aiguilles usagées. Cependant, les directives et les procédures en vigueur dans votre établissement peuvent être différentes et doivent être systématiquement respectées.
7. Jetez les objets pointus de prélèvement sanguin dans des récipients homologués pour l'élimination d'objets à risque biologique.
8. Le transfert d'un prélèvement à l'aide d'une seringue et d'une aiguille est déconseillé. La manipulation supplémentaire d'objets pointus tels que les aiguilles de perforation creuses augmente le risque de piqûre accidentelle.
9. Pour les raisons décrites ci-dessous, le transfert d'échantillons à partir d'une seringue dans un tube CellSave à l'aide d'un dispositif non pointu doit être réalisé avec précaution. L'abaissement du piston de la seringue pendant le transfert peut créer une pression positive qui déplace avec force le bouchon et l'échantillon, provoquant ainsi des éclaboussures et une éventuelle exposition au sang. L'utilisation d'une seringue pour transférer le sang peut également entraîner un remplissage insuffisant ou excessif des tubes. Ceci donne un rapport sang/additif incorrect et peut éventuellement fausser les résultats d'analyse. Les tubes CellSave sont conçus pour prélever un volume précis. Le remplissage est terminé lorsque le vide ne provoque plus aucun prélèvement. Cependant, certains tubes peuvent se remplir partiellement à cause de la résistance du piston lorsque le remplissage est effectué avec une seringue.
10. Si le sang est prélevé par ligne intraveineuse, s'assurer que cette ligne ne contient plus de solution IV avant de commencer à remplir les tubes CellSave.
11. Un remplissage insuffisant ou excessif des tubes entraîne un rapport sang/additif incorrect et peut fausser les résultats d'analyse.
12. Attention: Les échantillons doivent être transportés et stockés à une température située entre 15 et 30 °C. La réfrigération des échantillons avant leur traitement pourrait compromettre l'intégrité de ces échantillons.

Prévention du reflux
Étant donné que le tube de conservation CellSave contient des additifs, il est important d'éviter tout écoulement accidentel susceptible d'entraîner des effets indésirables. Pour éviter le reflux, respecter les précautions suivantes :
1. Abaisser le bras du patient.
2. Maintenir le tube avec le bouchon en dessus.
3. Desserrer le garrot dès que le sang commence à couler.
4. S'assurer que la solution contenue dans le tube ne touche pas le bouchon ni l'extrémité de l'aiguille pendant la ponction veineuse.

STOCKAGE
- Conserver les tubes entre 4 et 30 °C. Ne pas les utiliser si l'additif est trouble ou incolore. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.
- **Stocker ou transporter les échantillons à une température comprise entre 15 et 30 °C. Une isolation correcte peut être nécessaire lors du transport dans des conditions de température extrêmes.**

PROCÉDURE
Matériels fournis
Tubes de conservation CellSave. Contenu : 300 µl de solution contenant 4,6 % de Na_2EDTA et 36 % de préservatif cellulaire, 0,36 % de polyéthylèneglycol, 0,46 % d'ingrédients inertes.

Matériels nécessaires mais non fournis
Aiguilles de prélèvement sanguin et raccords, tampons à l'alcool, garrot
1. Effectuer une ponction veineuse conformément à la procédure CLSI H3-A6, *Procedure for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture* (Procédure de prélèvement d'échantillons sanguins pour diagnostic par ponction veineuse). Effectuer d'abord les prélèvements dans les tubes CellSave si des prélèvements doivent être faits dans plusieurs types de tube.
2. Remplir le tube jusqu'à ce que le flux sanguin s'arrête.
3. Retirer le tube du raccord et le retourner doucement huit fois pour mélanger son contenu. L'inversion du tube empêche la coagulation. Un mélange inapproprié ou retardé peut fausser les résultats du test.
4. Traiter l'échantillon dans les 96 heures qui suivent le prélèvement. Stocker les échantillons à une température comprise entre 15 et 30 °C.

PERFORMANCES
Récupération
Le taux de récupération a été évalué en ajoutant aux échantillons des quantités faibles de cellules tumorales (0, 50, 100 et 200 cellules/7,5 ml) et des quantités élevées de cellules tumorales (0, 100, 1 000 et 10 000 cellules/7,5 ml). Des cellules SKBR-3 (lignée cellulaire impliquée dans le cancer du sein) ont été ajoutées au sang de 5 cinq donneurs prelevé dans les tubes CellSave. Les échantillons ont été traités et colorés avec un colorant des acides nucléiques, l'anti-CD45-APC et l'anti-CK-PE, sur le système semi-automatisé de traitement des échantillons CELLPREP™, puis analysé par le cytomètre de flux FACSCalibur avec billes afin de permettre le calcul du nombre absolu de cellules. Dans le cas de l'expérience avec l'addition de quantités faibles de cellules tumorales SKBR-3, l'équation de régression était $y = 0{,}8x + 4{,}7$ et le coefficient de corrélation, $R^2 = 0{,}98$. Dans le cas de l'expérience avec l'addition de quantités élevées de cellules tumorales SKBR-3 l'équation de régression était $y = 0{,}9x + 6{,}2$ et le coefficient de corrélation, $R^2 = 0{,}99$.

Tableau 1. Données de récupération pour des quantités faibles et des quantités élevées de cellules SKBR-3.

	Quantités Faibles				Quantités Elevées			
Donneur	**0**	**50**	**100**	**200**	**0**	**100**	**1,000**	**10,000**
A	2	31	89	164	2	84	876	8,259
B	2	44	97	141	4	74	775	8,185
C	5	51	92	175	1	75	880	9,342
D	1	46	81	153	2	118	846	8,030
E	4	52	82	181	2	106	959	9,014
Moy.	3	45	88	163	2	91	867	8,566
% récupération		89.3%	88.2%	81.4%		91.3%	86.7%	85.7%

Substances parasites

Le sang de cinq donneurs sains a été prélevé dans des tubes EDTA et CellSave. On a ajouté environ 800 cellules SKBR-3 à ces prélèvements. D'éventuelles substances parasites (hémolyse, 5+, lipémie 1,94-2,04% de graisse émulsionnée, ictère 7,0mg/dl) ont été ajoutées aux tubes CellSave afin de déterminer leur effet sur la récupération et la numération des cellules tumorales. Des échantillons en double ont été traités sur le système semi-automatisé de traitement des échantillons CELLPREP™ et analysés sur le cytomètre de flux FACSCalibur. Les échantillons de sang total hémolysé, lipémique et ictérique prélevés dans le tube CellSave n'influent pas sur la récupération et la numération des cellules tumorales.

Tableau 2. Récupération des cellules tumorales ajoutées pour 7.5 ml de sang entier

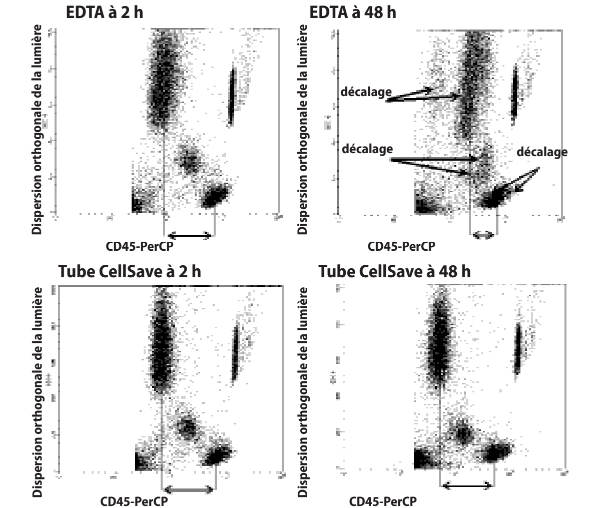
	Contrôle EDTA			Contrôle CellSave		
Donneur	#cellules récupérées	#cellules ajoutées	%de récupération	#cellules récupérées	#cellules ajoutées	%de récupération
A1	452	828	55%	388	696	56%
A2	445	828	54%	486	696	70%
B1	802	749	107%	689	696	99%
B2	711	749	95%	690	696	99%
C1	580	771	75%	289	716	40%
C2	451	771	58%	272	716	38%
D1	571	771	74%	552	716	77%
D2	642	771	83%	636	716	89%
E1	610	771	79%	526	716	73%
E2	541	771	70%	535	716	75%
Mean	581		75%	506		72%
SD	117		17%	150		22%

	CellSave, hémolyse			CellSave, lipémie			CellSave, ictère		
Donneur	#cellules récupérées	#cellules ajoutées	%de récupération	#cellules récupérées	#cellules ajoutées	%de récupération	#cellules récupérées	#cellules ajoutées	%de récupération
A1	482	696	69%	664	696	95%	638	696	92%
A2	502	696	72%	691	728	95%	612	728	84%
B1	514	696	74%	748	696	107%	678	696	97%
B2	571	696	82%	712	696	102%	679	696	98%
C1	499	716	70%	568	716	79%	561	716	78%
C2	470	716	66%	599	716	84%	514	716	72%
D1	582	716	81%	628	716	88%	651	716	91%
D2	551	716	77%	549	716	77%	589	716	82%
E1	571	716	80%	620	716	87%	554	716	77%
E2	499	716	70%	620	716	87%	584	716	82%
Mean	524		74%	640		90%	606		85%
SD	41		6%	63		10%	55		9%

Préservation antigénique en vue du phénotypage

La faculté de discerner nettement les différentes populations cellulaires dépend de l'âge de l'échantillon au moment de l'analyse, sauf si l'échantillon contient un préservatif. La conservation des leucocytes renseigne sur la qualité de l'échantillon lors de l'analyse des cellules tumorales circulantes. La figure 1 est un exemple typique de la densité en antigène CD45 des différentes populations cellulaires du sang prélevé dans un tube EDTA standard et un tube CellSave. Le sang a été analysé dans les deux heures qui ont suivi le prélèvement, puis une autre analyse a été effectuée environ 48 heures après le prélèvement. Le degré de séparation entre lymphocytes et granulocytes est indiqué par la longueur des barres horizontales sur l'axe X de chacun des graphiques. La séparation entre les deux populations cellulaires diminue au cours du temps dans le tube EDTA. La séparation est maintenue dans le tube CellSave. Les flèches de la figure qui pointent sur les populations de lymphocytes, de monocytes et de granulocytes montrent le décalage de ces populations cellulaires lié au vieillissement des échantillons sanguins. Il est ainsi plus difficile de distinguer ces populations cellulaires.

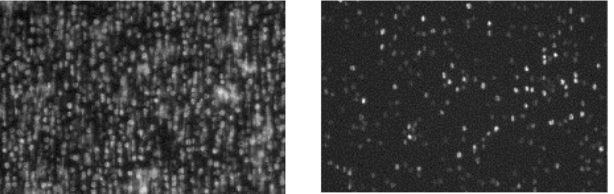
Figure 1. Séparation de groupes de cellules lors du vieillissement du sang prélevé dans les tubes EDTA et CellSave.



Qualité de l'échantillon

La qualité de l'échantillon est importante pour permettre une détection correcte des cellules épithéliales rares. L'intégrité des leucocytes dans les échantillons sanguins enrichis de manière immunomagnétique en cellules épithéliales avec le système CELLPREP™ représente une excellente mesure de cette qualité. La figure 2 illustre la coloration nucléaire (DAPI) des échantillons sanguins prélevés dans les tubes EDTA et CellSave traités 24 heures plus tard avec un système CELLPREP™. Les images ont été prises à un grossissement x10 sur un microscope à fluorescence. Alors qu'une quantité importante de matériel nucléaire est présente dans le sang prélevé dans le tube EDTA, seuls les objets ronds (leucocytes) sont présents dans l'échantillon prélevé dans le tube CellSave.

Figure 2. Coloration nucléaire des leucocytes dans les tubes EDTA et CellSave.



Veridex LLC
1001 US Hwy 202 North
Raritan, NJ 08869 USA
Téléphone : 1-877-VERIDEX (USA)
00 8000 8374339 (EU)

Cette technologie, y compris les produits et/ou composants associés, ainsi que les procédures et les systèmes instrumentaux décrits ici, sont protégés par des brevets américains et par des brevets internationaux correspondants ainsi que par des demandes de brevets en instance, appartenant à Veridex, LLC, et incluent un ou plusieurs des brevets suivants : brevets américains numéros 5,466,574 ; 5,512,332 ; 5,597,531 ; 5,698,271 ; 5,985,153 ; 5,993,665 ; 6,120,856 ; 6,136,182 ; 6,365,362 ; 6,551,843 ; 6,620,627 ; 6,623,982 ; 6,645,731 ; 6,660,159 ; 6,790,366 ; 6,861,259 ; 6,890,426 ; 7,011,794 ; 7,282,350 et 7,332,288. Veridex, LLC détient une licence pour certains composants, délivrée par Streck Laboratories, Inc., La Vista, NE, États-Unis, brevets américains numéros 5,849,517 et 5,459,073.

VERIDEX LLC
a Johnson&Johnson company
1001 US HWY 202 North
Raritan, New Jersey 08869 USA
1-877-VERIDEX

EC REP Ortho-Clinical Diagnostics
Johnson & Johnson
50-100 Holmers Farm Way
High Wycombe
Buckinghamshire
HP12 4DP
United Kingdom
00 8000 8374339 (EU)

CE

Publication juin 2010
631500041_FR
LBL50263